

ПРОТЕИНАЗЫ И ИХ ЭНДОГЕННЫЕ ИНГИБИТОРЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС, ПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ И НЕПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ К ПОТРЕБЛЕНИЮ ЭТАНОЛА

Ходос О.А., Гидранович Л.Г., Сачек М.М.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Введение. Предрасположенность к потреблению этанола экспериментальными животными характеризуется изначально высоким уровнем алкогольной мотивации и сопровождается повышенной элиминацией этанола из крови вследствие его интенсивного обмена в организме. Степень алкогольной мотивации крыс-самцов целесообразно определять методом «этанолового наркоза», который позволяет эффективно отбирать крыс с высоким уровнем алкогольной мотивации [1]. Длительность «этанолового наркоза» находится в обратной зависимости от степени алкогольной мотивации, что дает возможность характеризовать «короткоспящих» (КС) животных как предрасположенных к добровольному потреблению раствора этанола, а «долгоспящих» (ДС) – как потенциально отвергающих этанол. Одной из первичных реакций клетки в ответ на воздействие различных факторов является конформационная перестройка мембранных белков, активация мембраносвязанных протеиназ с экспрессией их в межклеточное пространство [2]. Этанол оказывает прямое и опосредованное его метаболитами воздействие на клетку, что может привести к изменению в системе протеиназы и их эндогенные ингибиторы

Цель. Исследовать общую протеолитическую активность, активность α_1 -протеиназного ингибитора и α_2 -макроглобулина в сыворотке крови крыс, различающихся по степени предпочтения раствора этилового спирта после хронической алкогольной интоксикации на фоне отмены этанола.

Материалы и методы. В эксперименте был задействован 21 самец крыс линии «Wistar», средняя масса которых к началу эксперимента составляла 360 грамм. Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном световом дне. Оценку суммарной активности этанол-метаболизирующих систем и отбор животных, предрасположенных к добровольному потреблению этанола осуществляли с помощью теста «этанолового наркоза» путем однократного внутривенного введения 25% раствора этанола в дозе 4,5 г/кг массы тела животного [1].

Экспериментальная модель физической зависимости животных воспроизводилась путем предоставления 15% раствор этанола *ad libitum* в качестве единственного источника питья. Для адаптации животных к вкусу и фармакологическому действию этилового спирта концентрацию растворов этанола ступенчато увеличивали в течение трех недель от 5 до 15% [1]. Животные контрольной группы получали водопроводную воду. Были сформированы 3 группы экспериментальных животных: I – контрольная группа; II – «короткоспящие» животные, III – «долгоспящие» животные

Экспериментальные животные потребляли раствор этанола не менее 29 недель. О формировании физической зависимости судили по объему потребленного раствора этанола в сутки, доза которого составляла не менее 5 г/кг массы тела животного. Декапитацию экспериментальных животных осуществляли через 24 часа после прекращения доступа к раствору этанола.

Общую протеолитическую активность, содержание α_1 -протеиназного ингибитора и α_2 -макроглобулина определяли спектрофотометрически по интенсивности гидролиза хромогенного субстрата N- α -бензоил-D.L-аргинин-пара-нитроанилида (БАПНА) [3]. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием t-критерия достоверности Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Было обнаружено, что общая протеолитическая активность в сыворотке крови КС крыс увеличилась по отношению к контролю на 42,32% ($p < 0,02$), у ДС животных произошло увеличение общей протеолитической активности на 22,16% ($p < 0,05$) Рис 1

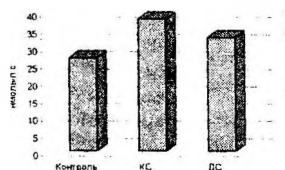


Рис. 1. Общая протеолитическая активность сыворотки крови крыс. КС – «короткоспящие» животные, ДС – «долгоспящие» животные.

Активность α_2 -макроглобулина снижалась по отношению к контролю у КС животных на 52,65% ($p < 0,01$) и у ДС крыс – на 51,32% ($p < 0,01$) Рис. 2. Содержание α_1 -протеиназного ингибитора у КС животных по сравнению с контролем снизилось на 3,62% ($p < 0,02$), у ДС – на 5,61% ($p < 0,01$) Рис. 3.

Статистически значимых изменений изучаемых показателей сыворотки крови у животных различающихся по степени предпочтения раствора этилового спирта на фоне отмены этанола выявлено не было. Согласно литературным данным у КС и ДС животных имеются различия в величине активности протеолитических ферментов, процессинга и деградации регуляторных пептидов [4]

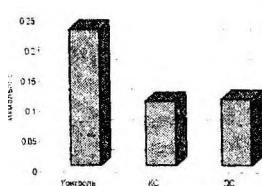


Рис 2. Активность α_2 -макроглобулина сыворотки крови крыс. КС – «короткоспящие» животные, ДС – «долгоспящие» животные.

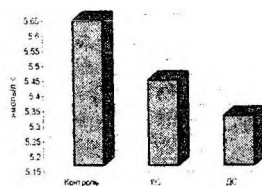


Рис. 3. Активность α_1 -протеиназного ингибитора сыворотки крови крыс. КС – «короткоспящие» животные, ДС – «долгоспящие» животные.

Животные с различной алкогольной мотивацией характеризуются также неодинаковым содержанием некоторых заменимых аминокислот и их производных. Однако отмечено, что ранее имевшиеся различия между КС и ДС

животными исчезают на фоне хронической алкоголизации. а одним из движущих механизмов алкогольной мотивации может являться метаболическая самокоррекция или стремление к оптимизации обмена [5]. что подтверждается нашими исследованиями.

Выводы.

1. Через 24 часа после отмены этанола у крыс, потреблявших этанол в течение 29 недель, общая протеолитическая активность сыворотки крови увеличивается у КС животных на 42,32%, у ДС животных – на 22.16% по сравнению с контролем.

2. Содержание α_1 -макроглобулина снижается по отношению к контролю у КС животных на 52.65%. у ДС крыс – на 51,32%, тогда как содержание α_1 -протеиназного ингибитора у КС животных снижается на 3.62% и у ДС – на 5.61%.
Литература:

1.Буров Ю.В. Нейрохимия и фармакология алкоголизма/ Ю.В. Буров, Н.Н. Велерникова. – М.: Медицина. 1985 – 240с.

2. Система протеолиза в оценке тяжести повреждения мозга (информационное письмо) Санкт-Петербург, 1992 – 10с.

3. Erlanger B.F., Kokowsky N., Cohen M. // Arch Biochem. Biophys – 1961 – V. 95. – № 2. – P. 271-278.

4. Панченко Л.Ф., Мнтюшина Н.В., Фирстова Н.В. Метаболизм энкефалинов при различных функциональных и патологических состояниях организма // Вопросы медицинской химии. – 1999 г. – №4 – С. 3 – 14.4.

5. Островский Ю.М. Метаболические предпосылки и последствия потребления алкоголя / Ю.М. Островский, В.И. Сатановская, С.Ю. Островский. – Мн.: Наука и техника, 1988. – 263 с.